

## 限饲对妊娠中期母羊血液生化指标及内脏脂肪组织脂肪代谢的影响

杨 宏<sup>1,2</sup> 周小玲<sup>1,2,3</sup> 颜琼娴<sup>1,4\*</sup> 谭支良<sup>1,5</sup>

(1.中国科学院亚热带农业生态研究所, 亚热带农业生态过程重点实验室, 畜禽养殖污染控制与资源化技术国家工程实验室, 湖南省畜禽健康养殖工程技术研究中心, 农业部中南动物营养与饲料科学观测实验站; 长沙 410125; 2.中国科学院大学, 北京 100049; 3.塔里木大学动物科学学院, 阿拉尔 843300; 4.湖南省植物功能成分利用协同创新中心, 长沙 410128; 5.

湖南省畜禽安全生产协同创新中心, 长沙 410128)

**摘 要:** 本试验旨在研究限饲对妊娠中期母羊血液生化指标、内脏脂肪组织(VAT)脂肪酸组成及脂肪代谢相关基因表达的影响。选取妊娠湘东黑山羊 16 只, 妊娠时间(45±3) d, 体重(29.86±3.07) kg, 随机分配至对照组(C 组, 100%妊娠营养需求)和限饲组(R 组, 60%妊娠营养需求), 每组 8 只, 试验期为妊娠 45~100 d。妊娠 101 d 时, 检测血液生化指标以及瘤胃网膜、肠系膜和肾周脂肪组织中脂肪酸组成、脂肪代谢和能量感知相关基因的表达。结果表明, R 组与 C 组相比: 1) 血液胰高血糖素、游离脂肪酸含量显著升高( $P<0.05$ ), 血液瘦素、脂联素和高密度脂蛋白胆固醇含量显著降低( $P<0.05$ )。2) 网膜脂花生四烯酸、棕榈油酸、亚油酸、二十碳三烯酸和多不饱和脂肪酸含量显著降低( $P<0.05$ ); 系膜脂豆蔻酸含量显著降低( $P<0.05$ ); 肾周脂亚油酸、花生四烯酸、二十碳三烯酸和多不饱和脂肪酸含量显著降低( $P<0.05$ )。3) 网膜脂腺苷酸活化蛋白激酶的催化亚基  $\alpha 2$ (AMPK $\alpha 2$ )基因表达有上调的趋势( $0.05<P\leq 0.10$ ); 系膜脂脂肪酸合成酶(FASN)、硬脂酰辅酶 A 脱氢酶 1(SCD1)、解偶联蛋白 2(UCP2)基因表达有下调的趋势( $0.05<P\leq 0.10$ ), 过氧化物酶体增殖激活受体  $\gamma$ (PPAR $\gamma$ )基因表达有上调的趋势( $0.05<P\leq 0.10$ ); 肾周脂 FASN、UCP2 基因表达显著下调( $P<0.05$ ), 腺苷酸活化蛋白激酶的非催化亚基  $\beta 1$ (AMPK $\beta 1$ )基因表达显著上调( $P<0.05$ ), 肉碱脂酰转移酶 1A(CPT1A)基因表达有上调的趋势( $0.05<P\leq 0.10$ )。综上所述, 妊娠中期限饲影响母羊脂肪代谢调控因子(瘦素和脂联素)和脂肪代谢产物(游离脂肪酸)含量, 导

收稿日期: 2017-12-04

基金项目: 国家自然科学基金(31402105); 国家自然科学基金(31760678); 中国科学院亚热带农业生态研究所青年创新团队(2017QNCXTD-ZCS)

作者简介: 杨 宏(1992—), 男, 土家族, 湖南湘西人, 硕士研究生, 研究方向为动物营养与饲料科学。E-mail: 742875934@qq.com

\*通信作者: 颜琼娴, 助理研究员, E-mail: yanqx14@isa.ac.cn

致 VAT 的脂肪酸(PUFA)组成和脂肪代谢相关基因(*FASN*、*SCD1*、*CPT1A* 和 *UCP2*)表达发生变化,使母体 VAT 脂肪合成作用减弱、脂质分解作用增强来调节机体能量稳态。

关键词: 限饲; 妊娠中期; 脂肪酸; 脂肪代谢; 山羊

中图分类号: S826

母羊妊娠期间,受天然饲草资源数量和品质、生产管理技术及环境应激等因素影响,易造成营养受限。妊娠期母羊营养受限不仅会影响母体自身的妊娠附属物的发育、后期繁殖性能、胎儿组织器官发育及子代生长性能,同时对母体物质和能量代谢如脂肪代谢等也有重要影响<sup>[1-3]</sup>。前人对母体妊娠期营养受限的研究主要集中在胚胎植入前后及妊娠晚期,在生产中对母体的营养干预也主要在妊娠晚期及泌乳阶段,对妊娠中期母体营养需要及能量代谢的研究较少。妊娠中期是指妊娠 1/3~2/3 阶段,这一时期是母体妊娠附属物发育和胎儿器官形态建成及功能完善的重要时期<sup>[4]</sup>,期间营养受限时母体的代谢变化及可能的代偿机制对妊娠中期营养需要研究及制订相应饲养管理策略具有重要意义。

妊娠期母体营养受限,母体会动员自身营养储备尤其是脂肪组织供能来维持胚胎发育和自身能量需求,以缓冲外界不良环境对胚胎发育的影响。脂肪组织是机体重要的能量贮存器官,也是重要的脂肪代谢调控器官。根据分布部位,脂肪组织可以分为皮下脂肪组织和内脏脂肪组织(visceral adipose tissue,VAT)。VAT 主要在瘤胃网膜、肠系膜和肾周等分布,其相对于皮下脂肪组织,细胞脂肪动员能力更强,速度更快,代谢产物能直接通过门静脉进入血液循环,进而影响机体脂质代谢和能量代谢。内脏脂肪代谢与机体胰岛素(INS)抵抗、脂肪代谢紊乱、糖尿病、脂肪肝、代谢综合征等<sup>[5-8]</sup>的产生密切相关。VAT 动员和代谢变化,是反映机体营养物质充足或缺乏的重要指征,也是机体对营养不足环境的重要应答路径。

本试验通过研究限饲对妊娠中期母羊血液脂肪代谢相关血液生化指标、VAT 脂肪酸组成及脂肪代谢相关基因表达的影响,试图初步解析妊娠中期低营养水平状态下妊娠母羊 VAT 脂肪动员及其对机体脂肪代谢的影响机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验动物及饲养管理

试验采用单因素随机区组试验设计。健康湘东黑山羊 16 只,妊娠天数( $45\pm3$ ) d,体重( $29.86\pm3.07$ ) kg,随机分配至对照组(C 组,100%妊娠营养需求)和限饲组(R 组,60%

妊娠营养需求), 每组 8 只。试验期为妊娠 45~100 d,试羊共接受 55 d 试验处理, 单栏饲养, 饲粮精粗比 50:50, 每日等量饲喂 2 次 (早 08:00 和晚 16:00), 先精后粗, 2 组基础饲粮相同, R 组饲喂量为 C 组的 60%, 自由饮水。限制期间母羊干物质采食量为: C 组 (1.14±0.04) kg/d, R 组 (0.60±0.02) kg/d, R 组实际限饲量为 C 组的 52%。限饲结束时母羊体增重为: C 组 (5.91±0.70) kg, R 组 (2.65±0.22) kg。基础饲粮组成及营养水平见表 1。

表 1 基础饲粮组成及营养水平 (干物质基础)

Table 1 Composition and nutrient levels of the basal diet (DM basis)		%
项目 Items	含量 Content	
原料 Ingredients		
芒草 Miscanthus	50.00	
玉米 Maize	33.50	
豆粕 Soybean meal	10.33	
脂肪粉 Fat power	4.00	
碳酸钙 CaCO <sub>3</sub>	0.49	
磷酸氢钙 CaHPO <sub>4</sub>	0.46	
食盐 NaCl	0.23	
预混料 Premix <sup>1)</sup>	1.00	
合计 Total	100.00	
营养水平 Nutrient Levels <sup>2)</sup>		
代谢能 ME/ (MJ/kg)	11.78	
粗蛋白质 CP	12.05	
粗脂肪 EE	8.97	
中性洗涤纤维 NDF	64.44	
酸性洗涤纤维 ADF	28.32	
粗灰分 Ash	5.89	
钙 Ca	0.53	
磷 P	0.20	

<sup>1)</sup>每千克预混料含有 One kg of premix contained the following: MgSO<sub>4</sub>•H<sub>2</sub>O 119 g,FeSO<sub>4</sub>•7H<sub>2</sub>O 2.5 g, CuSO<sub>4</sub>•5H<sub>2</sub>O 0.8 g, MnSO<sub>4</sub>•H<sub>2</sub>O 3 g, ZnSO<sub>4</sub>•H<sub>2</sub>O 5 g, Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> 10 mg, KI 40 mg, CoCl<sub>2</sub>•6H<sub>2</sub>O 30 mg, VA 95 000 IU, VD 17 500 IU, VE 18 000 IU。

<sup>2)</sup>代谢能为计算值, 计算方法参考张宏福等<sup>[9]</sup>, 其余指标为实测值, 测定方法参考张丽英等<sup>[10]</sup>。ME was a calculated value calculated using the method of Zhang et al<sup>[9]</sup>, and the others were measured values measured using the methods of Zhang et al<sup>[10]</sup>.

1.2 样品采集及分析

1.2.1 血样采集与分析

试验结束后，试羊空腹 24 h，于次日（妊娠 101 d）09:00 经颈静脉采血，肝素钠抗凝，室温静置 4 h，在 4 °C 条件下以 1 200×g 离心 10 min 分离血浆，-20 °C 保存待测。血液葡萄糖（GLU）、甘油三酯（TG）、总胆固醇（CHOL）、高密度脂蛋白胆固醇（HDL-C）和低密度脂蛋白胆固醇（LDL-C）含量采用日立 7600 全自动生化分析仪分析（试剂购自北京利德曼生化股份有限公司）。血液 INS、胰高血糖素、瘦素（LEP）和脂联素（ADP）含量采用酶联免疫法测定（试剂盒购自武汉华美生物工程有限公司）。血液游离脂肪酸（FFA）含量采用试剂盒测定（试剂盒购自南京建成生物工程研究所）。

### 1.2.2 脂肪组织样本采集及分析

经颈动脉放血、剥皮开膛后，分离瘤胃网膜脂肪组织（简称网膜脂）、肠系膜脂肪组织（简称系膜脂）和肾周脂肪组织（简称肾周脂），经液氮速冻后于-80 °C 冷冻保存。

#### 1.2.2.1 脂肪酸含量测定

脂肪组织经冷冻干燥和研碎后，称取样品约 0.5 g，置于 50 mL 离心管中，加入 4 mL 苯-石油醚混合溶剂（按体积比 1:1 混合），密闭浸提 24 h 后，加入 4 mL 氢氧化钾-甲醇溶液（0.4 mol/L）快速甲酯化，振荡混匀 3 min 后，静置 30 min。加入超纯水分层，9 200×g 离心 10 min 取上层溶液，加入适量无水硫酸钠除去残留水分。取上述 200 μL 上清液，加 800 μL 正己烷稀释，经 0.22 μm 滤膜过滤后备测。采用 Agilent 7890A 气相色谱仪（Agilent 公司，美国）检测上清液中脂肪酸含量，详细步骤参见 Ichihara 等<sup>[11]</sup>的方法。采用峰面积归一化法来定量，各脂肪酸的含量以单个脂肪酸在总甲酯化脂肪酸中所占的质量百分比表示。

#### 1.2.2.2 实时定量 PCR（RT-PCR）

总 RNA 提取：用 RNAios Plus 试剂（TaKaRa 公司）提取总 RNA，方法见说明书，用微量紫外分光光度计于 260 nm 和 1%变性琼脂糖凝胶电泳测定总 RNA 的浓度与纯度，以 260 和 280 nm 吸光度值比值（OD<sub>260 nm</sub>/OD<sub>280 nm</sub>）在 1.8~2.1 的为总 RNA 纯度较好，以电泳后 28S rRNA 和 18S rRNA 的灰度值比 2:1 为依据，评判提取总 RNA 的质量。

反转录：取 2 μg 总 RNA 采用 Prime Script<sup>RT</sup> reagent kit 反转录试剂盒（TaKaRa 公司）进行反转录反应，反应采用 40 μL 体系，方法见说明书，反转录产物 cDNA 于-80 °C 保存备用。

引物设计：目的基因和内参基因β-肌动蛋白（β-actin）的引物使用 Primer premier 5.0 软

件根据 GenBank 中发表的山羊基因序列设计,用 Primer-BLAST 工具在线进行引物特异性分析。引物由上海生工生物工程技术有限公司合成,引物序列及参数见表 2。

表 2 RT-PCR 特异性引物序列及参数

Table 2 Sequences and parameters of specific primers for RT-PCR			
项目 Items	引物序列 Primer sequences (5'—3')	产物大小 Produce size/bp	登录号 Accession No.
β-肌动蛋白 β-actin	上游: ATGGCTACTGCTGCGTCGT 下游: TTGAAGGTGGTCTCGTGGAT	161	XM_018063603.1
乙酰辅酶 A 羧化酶α ACCa	上游:ATGTGGATGATGGGCTGAA 下游:GCTTGAACCTGTCGGAAGAG	139	XM_018064168.1
酰基辅酶 A 氧化酶 1 ACOX1	上游:ACCTGTGAGTTTGTGCCTGA 下游:TTGGGCTGGAAAGATGCTAC	109	XM_018063769.1
肉碱脂酰转移酶 1A CPT1A	上游:TCATACTCGCTGGGAACAGA 下游:TCTCGGAAGGAAACAAATGC	111	XM_018043311.1
脂肪酸合成酶 FASN	上游:CGCCTCTCCTTCTTCTTTGA 下游:CCTCTCTGGATGGCTTGGTA	107	NM_001285629.1
激素敏感脂肪酶 HSL	上游:GAGGGTCATTGCCGACTT 下游:CGTTGCGTTTGTAGTGCTC	160	XM_018062482.1
肝 X 受体α LXRα	上游:TGCTGATGAAACTGGTGAGC 下游:TGAAGACACGGAGGAGGAAC	147	NM_001285751.1
过氧化物酶体增殖激活受体γ PPARγ	上游:CGGCTTTGTGAACCTTGACT 下游:GGATATGAGGACCCCATCCT	115	NM_001285658.1
硬脂酰辅酶 A 脱氢酶 1 SCD1	上游:CTTCTCCGGTACGCTGTTGT 下游:CCCAGGGAAACCAGGATATT	122	NM_001285619.1
肝激酶 B1 LKB1	上游: GGACACCTTCTCTGGCTTCA 下游: CCCTTCCCGATGTTCTCAA	126	XM_018050463.1
解偶联蛋白 1 UCP1	上游:TGGGACACACAGCATCAGAC 下游:TAAAGGCACTGGAGGTCAGG	156	XM_018061376.1
解偶联蛋白 2 UCP2	上游:GAGGTTGCAGGAATCGTCAT 下游:GGGAAAGGTGATGAGGTCAG	120	XM_018058858.1
过氧化物酶体增殖物激活受体γ共 激活因子 1α PGC-1α	上游:CCGAGAATTCATGGAGCAAT 下游:GATTGTGTGTGGGCCTTCTT	184	XM_018049155.1
腺苷酸活化蛋白激酶的催化亚基 α2 AMPKα2	上游: TTGATGATGAGGTGGTGGAG 下游: CCGTGAGAGAGCCAGAGAGT	138	XM_018044652.1
腺苷酸活化蛋白激酶的非催化亚 基β1 AMPKβ1	上游: CCACCACATCTCCTCCAAGT 下游: GAGCACCATCACTCCATCCT	135	XM_013970630.2

使用荧光定量 PCR 仪 (ABI 7900 HT, ABI 公司, 美国) 进行 RT-PCR。采用 10 μL 反应体系: SYBR Premix Ex Taq II (2×) 5.0 μL, 上游引物 (10 μmol/L) 0.4 μL, 下游引物 (10 μmol/L) 0.4 μL, cDNA 模板 1.0 μL, dH<sub>2</sub>O (RNase Free) 3.2 μL。反应条件: 95 °C 30

s 预变性; 95 ℃ 5 s 变性, 60 ℃ 20 s 延伸, 40 个循环。溶解曲线分析: 95 ℃ 5 s, 65 ℃ 60 s。降温: 50 ℃ 30 s。每个样本 3 个重复。本试验中以β-actin 作为内参基因, 以对照组基因循环阈值 (Ct) 的平均值作为对照组 Ct, 基因相对表达量计算采用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  法。

1.3 数据统计与分析

所有试验数据经 Excel 2013 软件整理后采用 SPSS 19.0 软件进行 *t* 检验统计分析, 以  $P<0.05$  为差异显著, 以  $0.05<P\leq 0.10$  为有差异趋势, 结果以平均值 (mean) 及标准误 (SE) 表示。

2 结 果

2.1 血液生化指标

由表 3 可知, 与 C 组相比, R 组母羊血液中胰高血糖素和 FFA 含量显著升高 ( $P<0.05$ ), 血液 LEP、ADP 和 HDL-C 含量显著下降 ( $P<0.05$ ), 血液 INS、GLU、TG、CHOL、LDL-C 含量及 HDL-C/CHOL 无显著变化 ( $P>0.10$ )。

表 3 限饲对妊娠中期母羊血液生化指标的影响

Table 3 Effects of feeding restriction on blood biochemical indexes in mid-pregnancy dams					
项目 Items	对照组 Control group		限饲组 Restriction group		<i>P</i> 值 <i>P</i> -value
	平均值 Mean	标准误 SE	平均值 Mean	标准误 SE	
胰岛素 INS/ (μIU/mL)	12.70	1.83	11.67	1.31	0.672
胰高血糖素 GLUC/ (ng/L)	23.57	1.72	52.25	6.94	0.002
游离脂肪酸 FFA/(mmol/L)	0.44	0.01	0.58	0.01	0.007
瘦素 LEP/ (ng/mL)	3.60	1.80	0.83	0.19	0.024
脂联素 ADP/ (ng/mL)	1 771.24	192.03	1 061.80	106.38	0.012
葡萄糖 GLU/(mmol/L)	3.34	0.61	2.84	0.29	0.522
甘油三酯 TG/(mmol/L)	0.45	0.50	0.43	0.08	0.835
总胆固醇 CHOL/(mmol/L)	3.33	0.22	3.24	0.07	0.781
高密度脂蛋白胆固醇 HDL-C/ (mmol/L)	2.01	0.11	1.69	0.09	0.044
低密度脂蛋白胆固醇 LDL-C/ (mmol/L)	1.35	0.12	1.37	0.08	0.908
高密度脂蛋白胆固醇/总胆固醇 HDL-C/CHOL	0.58	0.01	0.57	0.03	0.675

$0.05<P\leq 0.10$  为有差异趋势,  $P<0.05$  为差异显著。下表同。  
 $0.05<P\leq 0.10$  indicated tendency of difference, and  $P<0.05$  indicated significant difference. The same as below.

2.2 内脏脂肪组织脂肪酸组成



由表 4 可知，与 C 组相比，R 组网膜花生四烯酸（C20:4n6）、棕榈油酸（C16:1）、亚油酸（C18:2n6c）、二十碳三烯酸（C20:3n6）和多不饱和脂肪酸（PUFA）含量显著降低（ $P<0.05$ ），网膜豆蔻酸（C14:0）和棕榈酸（C16:0）含量分别有降低和升高的趋势（ $0.05<P\leq 0.10$ ），检测的网膜其余脂肪酸含量 2 组间无显著差异（ $P>0.10$ ）。

表 4 限饲对妊娠中期母羊网膜脂肪酸组成的影响

Table 4 Effects of feeding restriction on fatty acid composition of omental adipose tissue in mid-pregnancy

项目 Items	对照组 Control group		限饲组 Restriction group		P 值 P-value
	平均值	标准误	平均值	标准误	
	Mean	SE	Mean	SE	
豆蔻酸 C14:0	2.624 7	0.098 3	2.349 6	0.097 4	0.076
棕榈酸 C16:0	22.129 5	0.374 7	23.068 3	0.292 4	0.087
棕榈油酸 C16:1	1.681 9	0.082 5	1.424 7	0.044 5	0.029
十七烷酸 C17:0	2.026 0	0.104 8	1.807 4	0.094 6	0.161
硬脂酸 C18:0	35.468 2	1.955 5	38.409 5	0.817 3	0.241
反式油酸 C18:1n9t	4.708 3	0.290 0	5.452 1	0.313 6	0.110
油酸 C18:1n9c	26.611 4	1.495 5	23.900 5	0.869 8	0.178
亚油酸 C18:2n6c	3.372 3	0.263 2	2.472 0	0.256 7	0.034
γ-亚麻酸 C18:3n6	0.038 5	0.007 1	0.041 6	0.003 9	0.713
α-亚麻酸 C18:3n6	0.288 9	0.112 4	0.149 3	0.055 0	0.291
花生酸 C20:0	0.129 8	0.037 0	0.179 9	0.051 1	0.430
二十碳烯酸 C20:1	0.530 3	0.050 3	0.501 9	0.068 5	0.738
二十碳三烯酸 C20:3n6	0.039 2	0.003 1	0.026 6	0.003 1	0.015
花生四烯酸 C20:4n6	0.243 0	0.015 9	0.138 4	0.026 6	0.004
二十二碳六烯酸 DHA	0.108 0	0.017 0	0.078 2	0.028 1	0.357
饱和脂肪酸 SFA	62.378 2	1.756 3	65.814 7	0.661 1	0.132
单不饱和脂肪酸 MUFA	33.531 9	1.571 9	31.279 2	0.839 3	0.275
多不饱和脂肪酸 PUFA	4.089 9	0.375 9	2.906 1	0.285 1	0.036

饱和脂肪酸=豆蔻酸+棕榈酸+十七烷酸+硬脂酸+花生酸；单不饱和脂肪酸=棕榈油酸+反式油酸+油酸+二十碳烯酸；多不饱和脂肪酸=亚油酸+γ-亚麻酸+α-亚麻酸+二十碳三烯酸+花生四烯酸+二十二碳六烯酸。下表同。

SFA=C14:0+C16:0+C17:0+C18:0+C20:0; MUFA=C16:1+C18:1n9t+C18:1n9c+C20:1;  
PUFA=C18:2n6c+C18:3n6+C20:3n6+C20:4n6+C22:6n3. The same as below.

由表 5 可知，与 C 组相比，R 组系膜豆蔻酸含量显著降低（ $P<0.05$ ），系膜亚油酸、α-亚麻酸（C18:3n6）、二十碳烯酸（C20:1）、二十碳三烯酸和 PUFA 含量有降低的趋势（ $0.05<P$

≤0.10)，系膜反式油酸（C18:1n9t）含量有升高趋势（0.05<P≤0.10），检测的系膜其余脂肪酸含量 2 组间无显著差异（P>0.10）。

表 5 限饲对妊娠中期母羊系膜脂脂肪酸组成的影响

Table 5 Effects of feeding restriction on fatty acid composition of mesenteric adipose tissue in

	mid-pregnancy dams		%		
	对照组		限饲组		
项目	Control group		Restriction group		P 值
Items	平均值	标准误	平均值	标准误	P-value
	Mean	SE	Mean	SE	
豆蔻酸 C14:0	2.760 5	0.118 2	2.424 2	0.066 2	0.043
棕榈酸 C16:0	24.440 2	0.422 5	24.045 0	0.300 6	0.491
棕榈油酸 C16:1	1.407 4	0.038 6	1.364 3	0.054 2	0.517
十七烷酸 C17:0	1.918 0	0.074 6	1.824 4	0.093 5	0.444
硬脂酸 C18:0	37.110 7	1.491 5	38.837 7	1.170 3	0.406
反式油酸 C18:1n9t	4.694 1	0.186 5	5.348 9	0.312 6	0.082
油酸 C18:1n9c	23.246 3	1.112 1	22.564 2	1.124 3	0.680
亚油酸 C18:2n6c	3.051 1	0.201 2	2.481 0	0.250 8	0.098
γ-亚麻酸 C18:3n6	0.045 0	0.006 6	0.039 5	0.006 3	0.563
α-亚麻酸 C18:3n6	0.259 1	0.074 1	0.102 3	0.017 7	0.075
花生酸 C20:0	0.184 8	0.049 3	0.250 7	0.055 3	0.393
二十碳烯酸 C20:1	0.584 1	0.040 0	0.463 1	0.050 2	0.081
二十碳三烯酸 C20:3n6	0.034 4	0.002 9	0.026 6	0.003 1	0.093
花生四烯酸 C20:4n6	0.203 9	0.017 4	0.158 9	0.029 4	0.188
二十二碳六烯酸 DHA	0.060 6	0.007 8	0.069 3	0.025 7	0.757
饱和脂肪酸 SFA	66.414 1	1.275 2	67.382 0	1.224 0	0.604
单不饱和脂肪酸 MUFA	29.931 8	1.218 0	29.740 5	1.194 0	0.915
多不饱和脂肪酸 PUFA	3.654 1	0.255 2	2.877 5	0.297 6	0.071

由表 6 可知，与 C 组相比，R 组肾周脂亚油酸、花生四烯酸、二十碳三烯酸和 PUFA 含量显著降低（P<0.05），肾周脂豆蔻酸含量有降低趋势（0.05<P≤0.10），检测的其余脂肪酸含量 2 组间无显著差异（P>0.10）。

表 6 限饲对妊娠中期母羊肾周脂脂肪酸组成的影响

Table 6 Effects of feeding restriction on fatty acid composition of perirenal adipose tissue in mid-pregnancy

		dams		%		
		对照组		限饲组		
项目		Control group		Restriction group		P 值
Items		平均值	标准误	平均值	标准误	P-value
		Mean	SE	Mean	SE	
豆蔻酸	C14:0	2.847 4	0.165 6	2.434 2	0.095 7	0.072



棕榈酸 C16:0	24.306 1	0.479 1	25.151 4	0.392 9	0.219
棕榈油酸 C16:1	1.468 5	0.072 3	1.298 4	0.068 3	0.123
十七烷酸 C17:0	1.930 2	0.096 9	1.713 6	0.093 8	0.144
硬脂酸 C18:0	38.837 5	1.593 0	40.042 8	0.836 3	0.556
反式油酸 C18:1n9t	4.965 7	0.274 4	5.548 4	0.271 6	0.166
油酸 C18:1n9c	20.933 6	0.806 9	20.225 6	0.532 4	0.511
亚油酸 C18:2n6c	3.420 5	0.200 6	2.448 6	0.239 6	0.009
γ-亚麻酸 C18:3n6	0.039 9	0.005 3	0.032 9	0.004 7	0.365
α-亚麻酸 C18:3n6	0.179 8	0.067 1	0.199 7	0.065 6	0.840
花生酸 C20:0	0.225 3	0.037 6	0.309 1	0.063 1	0.251
二十碳烯酸 C20:1	0.548 6	0.060 0	0.418 6	0.075 6	0.197
二十碳三烯酸 C20:3n6	0.033 4	0.002 4	0.024 3	0.002 7	0.026
花生四烯酸 C20:4n6	0.195 2	0.011 6	0.107 1	0.021 6	0.002
二十二碳六烯酸 DHA	0.068 3	0.006 6	0.045 1	0.020 8	0.327
饱和脂肪酸 SFA	68.146 5	1.090 4	69.651 2	0.749 2	0.311
单不饱和脂肪酸 MUFA	27.916 3	0.982 1	27.491 1	0.566 9	0.715
多不饱和脂肪酸 PUFA	3.937 2	0.224 6	2.857 7	0.296 6	0.012

2.3 内脏脂肪组织脂肪代谢相关基因表达

由表 7 可知，与 C 组相比，R 组网膜脂腺苷酸活化蛋白激酶的催化亚基α2(*AMPKα2*)基因表达有上调的趋势（ $0.05 < P \leq 0.10$ ），其余网膜脂基因表达 2 组间无显著差异（ $P > 0.10$ ）。

表 7 限饲对妊娠中期母羊网膜脂脂肪代谢相关基因表达的影响

Table 7 Effects of feeding restriction on gene expressions related to lipid metabolism of omental adipose tissue in mid-pregnancy dams					
项目 Items	对照组 Control group		限饲组 Restriction group		<i>P</i> 值 <i>P-value</i>
	平均值	标准误	平均值	标准误	
	Mean	SE	Mean	SE	
脂肪代谢 Lipid metabolism					
乙酰辅酶 A 羧化酶 α <i>ACCα</i>	1.086	0.186	1.020	0.197	0.814
酰基辅酶 A 氧化酶 1 <i>ACOX1</i>	1.285	0.353	1.748	0.469	0.442
肉碱脂酰转移酶 1A <i>CPT1A</i>	1.035	0.090	2.176	0.816	0.235
脂肪酸合成酶 <i>FASN</i>	1.086	0.157	0.798	0.231	0.309
激素敏感脂肪酶 <i>HSL</i>	1.230	0.292	1.556	0.364	0.496
肝 X 受体 α <i>LXRα</i>	1.292	0.418	1.160	0.578	0.854
过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 共激活因子 1 α <i>PGC-1α</i>	1.360	0.397	0.654	0.248	0.222
过氧化物酶体增殖物激活受体 γ <i>PPARγ</i>	1.306	0.372	0.880	0.284	0.418
硬脂酰辅酶 A 脱氢酶 1 <i>SCD1</i>	1.486	0.531	0.560	0.149	0.131
能量状态感知 Energy state perception					

解偶联蛋白 1 <i>UCP1</i>	1.197	0.282	0.515	0.171	0.124
解偶联蛋白 2 <i>UCP2</i>	1.206	0.274	1.216	0.306	0.982
腺苷酸活化蛋白激酶的催化亚基 $\alpha$ 2 <i>AMPK<math>\alpha</math>2</i>	1.061	0.090	1.690	0.297	0.066
腺苷酸活化蛋白激酶的非催化亚基 $\beta$ 1 <i>AMPK<math>\beta</math>1</i>	1.100	0.179	1.714	0.555	0.231
肝激酶 B1 <i>LKB1</i>	1.200	0.287	1.268	0.082	0.875

由表 8 可知,与 C 组相比,R 组系膜脂脂肪合成酶(*FASN*)、硬脂酰辅酶 A 脱氢酶 1(*SCD1*)和解偶联蛋白 2(*UCP2*)基因表达有下调的趋势 ( $0.05 < P \leq 0.10$ ),系膜脂过氧化物酶体增殖激活受体 $\gamma$ (*PPAR $\gamma$* )基因表达有上调的趋势 ( $0.05 < P \leq 0.10$ ),其余系膜脂基因表达 2 组间无显著差异 ( $P > 0.10$ )。

表 8 限饲对妊娠中期母羊系膜脂脂肪代谢相关基因表达的影响

Table 8 Effects of feeding restriction on gene expressions related to lipid metabolism of mesenteric adipose

tissue in mid-pregnancy dams					
项目 Items	对照组		限饲组		<i>P</i> 值 <i>P</i> -value
	Control group		Restriction group		
	平均值	标准误	平均值	标准误	
	Mean	SE	Mean	SE	
脂肪代谢 Lipid metabolism					
乙酰辅酶 A 羧化酶 $\alpha$ <i>ACC<math>\alpha</math></i>	1.349	0.328	0.775	0.181	0.247
酰基辅酶 A 氧化酶 1 <i>ACOX1</i>	1.281	0.358	1.018	0.339	0.614
肉碱脂酰转移酶 1A <i>CPT1A</i>	1.335	0.510	1.462	0.507	0.865
脂肪酸合成酶 <i>FASN</i>	1.617	0.586	0.463	0.146	0.099
激素敏感脂肪酶 <i>HSL</i>	1.123	0.233	1.800	0.536	0.209
肝 X 受体 $\alpha$ <i>LXR<math>\alpha</math></i>	1.275	0.344	1.290	0.235	0.974
过氧化物酶体增殖物激活受体					
$\gamma$ 共激活因子 1 $\alpha$ <i>PGC-1<math>\alpha</math></i>	1.260	0.416	1.517	0.762	0.754
过氧化物酶体增殖激活受体 $\gamma$ <i>PPAR<math>\gamma</math></i>	1.396	0.382	2.482	0.272	0.060
硬脂酰辅酶 A 脱氢酶 1 <i>SCD1</i>	1.747	0.627	0.472	0.118	0.089
能量状态感知 Energy state perception					
解偶联蛋白 1 <i>UCP1</i>	1.143	0.256	1.372	0.285	0.561
解偶联蛋白 2 <i>UCP2</i>	1.202	0.314	0.400	0.134	0.053
腺苷酸活化蛋白激酶的催化亚					
基 $\alpha$ 2 <i>AMPK<math>\alpha</math>2</i>	1.234	0.222	1.283	0.287	0.893
腺苷酸活化蛋白激酶的非催化					
亚基 $\beta$ 1 <i>AMPK<math>\beta</math>1</i>	1.143	0.225	1.178	0.321	0.926
肝激酶 B1 <i>LKB1</i>	1.082	0.186	3.015	1.458	0.277

由表 9 可知,与 C 组相比,R 组肾周脂 *FASN* 和 *UCP2* 基因表达显著下调 ( $P < 0.05$ );

肾周脂腺苷酸活化蛋白激酶的非催化亚基β1(*AMPKβ1*)基因表达显著上调 ( $P<0.05$ ), 肾周脂肉碱脂酰转移酶 1A(*CPT1A*)基因表达有上调的趋势 ( $0.05<P\leq0.10$ ), 其余肾周脂基因表达 2 组间无显著差异 ( $P>0.10$ )。

表 9 限饲对妊娠中期母羊肾周脂脂肪代谢相关基因表达的影响

Table 9 Effects of feeding restriction on gene expressions related to lipid metabolism of perirenal adipose tissue

in mid-pregnancy dams					
项目 Items	对照组		限饲组		<i>P</i> 值 <i>P</i> -value
	Control group		Restriction group		
	平均值	标准误	平均值	标准误	
	Mean	SE	Mean	SE	
脂肪代谢 Lipid metabolism					
乙酰辅酶 A 羧化酶 α <i>ACCα</i>	1.110	0.218	0.770	0.230	0.314
酰基辅酶 A 氧化酶 1 <i>ACOX1</i>	1.409	0.387	1.350	0.412	0.927
肉碱脂酰转移酶 1A <i>CPT1A</i>	1.131	0.221	3.030	1.171	0.064
脂肪酸合成酶 <i>FASN</i>	1.212	0.297	0.268	0.062	0.024
激素敏感脂肪酶 <i>HSL</i>	1.277	0.359	1.144	0.240	0.785
肝 X 受体 α <i>LXRα</i>	1.170	0.238	1.376	0.935	0.808
过氧化物酶体增殖物激活受体 γ					
共激活因子 1 α <i>PGC-1α</i>	1.157	0.304	0.535	0.226	0.177
过氧化物酶体增殖激活受体 γ					
<i>PPARγ</i>	1.131	0.222	1.832	0.955	0.393
硬脂酰辅酶 A 脱氢酶 1 <i>SCD1</i>	1.343	0.447	0.838	0.236	0.398
能量状态感知 Energy state perception					
解偶联蛋白 1 <i>UCP1</i>	1.420	0.638	0.697	0.204	0.336
解偶联蛋白 2 <i>UCP2</i>	1.053	0.152	0.504	0.088	0.016
腺苷酸活化蛋白激酶的催化亚基					
α 2 <i>AMPKα2</i>	1.157	0.155	1.623	0.269	0.121
腺苷酸活化蛋白激酶的非催化亚					
基 β 1 <i>AMPKβ1</i>	1.143	0.187	1.986	0.332	0.035
肝激酶 B1 <i>LKB1</i>	1.076	0.237	2.933	1.979	0.256

3 讨 论

饲料营养供给不足时,妊娠母体会通过动员自身的能量储备——脂肪组织来维持自身和妊娠能量需求。VAT 作为机体能量贮存和脂肪代谢系统的重要组成部分,可通过自身脂肪合成代谢和分解代谢调控来影响血液中脂肪代谢物质的浓度<sup>[12]</sup>,进而影响机体脂肪代谢和能量代谢,以维持机体脂肪代谢和能量代谢的相对平衡。

3.1 限饲对母羊血液生化指标的影响

胰高血糖素是机体能量代谢重要调节激素,其可通过促进糖异生和糖原分解,降低脂肪酸合成和促进脂肪酸分解释放进入血液循环,以便机体组织氧化供能等来维持机体血液 GLU 和能量稳衡<sup>[13]</sup>。胰高血糖素的升高会使机体从 VAT 动员分解更多的 FFA 进入血液来弥补机体能量负平衡<sup>[12]</sup>。LEP 和 ADP 是脂肪组织分泌的调控脂肪代谢、脂质稳态和能量代谢的重要调控因子<sup>[14-17]</sup>,低营养条件和血液 FFA 的增加都会抑制 LEP 的分泌<sup>[18]</sup>,本试验中 R 组母羊血液胰高血糖素和 FFA 含量升高,血液 LEP 和 ADP 含量降低,血液 GLU 含量相对稳定。这说明限饲条件下母体通过升高血液胰高血糖素含量、降低 LEP 和 ADP 含量来调整机体脂肪代谢,增强脂肪动员和增加对血液中脂肪分解产物 FFA 的利用来补偿机体能量不足,以维持血液 GLU 的相对稳定,从而适应营养限制环境保证妊娠的进行,这与 Haghiac 等研究结果一致<sup>[19]</sup>。

### 3.2 限饲对母羊 VAT 脂肪酸组成的影响

VAT 脂肪酸组成主要受机体内脂肪合成代谢和分解代谢影响,妊娠动物脂肪酸组成对其繁殖性能、乳脂含量和能量代谢有重要意义。本试验中,限饲引起 VAT 脂肪酸组成发生明显变化,饱和脂肪酸豆蔻酸和不饱和脂肪酸(C18 和 C20 为主)在不同 VAT 部位含量均降低。反刍动物中,中短链脂肪酸主要来自于乙酸和丁酸的从头合成,PUFA 主要来自于瘤胃微生物生物转化和饲料沉积<sup>[20-22]</sup>。这提示 R 组 VAT 脂肪酸变化的可能原因如下:一方面来源下降,限饲造成脂肪酸合成前体物乙酸和丁酸的来源减少,导致合成脂肪酸的微生物减少<sup>[23]</sup>,同时饲料来源 PUFA 也减少;另一方面去路增加,饲料供能不足导致妊娠母羊脂肪动员,长链脂肪分解和脂肪酸氧化供能增加。2 方面共同作用,导致了 VAT 脂肪酸组成的变化。

### 3.3 限饲对母羊 VAT 脂肪代谢相关基因表达的影响

机体营养状态可通过影响与脂肪代谢相关基因的表达来调节脂肪组织脂肪合成、脂肪动员和能量状态感知的功能<sup>[24]</sup>,进而调控机体脂肪代谢和能量代谢。本试验主要研究限饲对 VAT 脂肪合成、脂肪动员及能量状态感知关键基因表达的影响。

*FASN*、*SCD1*、*ACCa*、肝 X 受体  $\alpha$  (*LXR $\alpha$* )和 *PPAR $\gamma$* 是参与脂肪从头合成、脂质储存、脂肪酸稳态和脂肪细胞分化调控的关键基因<sup>[24-25]</sup>,其中 *FASN* 主要调控脂肪酸从头合成,影响脂肪沉积<sup>[26-27]</sup>; *SCD1* 参与催化不饱和脂肪酸合成及饱和脂肪酸去饱和化<sup>[28]</sup>。本试验中,与

C 组相比, R 组 VAT 中, *FASN* 在肾周脂和系膜脂、*SCD1* 在系膜脂均不同程度下调, 表明限饲引起的营养不足导致肾周脂和系膜脂中长链脂肪酸从头合成能力减弱。VAT 亚油酸、 $\alpha$ -亚麻酸、二十碳烯酸等脂肪酸含量降低印证了基因表达的结果。

激素敏感脂肪酶(*HSL*)、*CPT1A*、酰基辅酶 A 氧化酶 1(*ACOX1*)和过氧化物酶体增殖物激活受体 $\gamma$ 共激活因子 1 $\alpha$ (*PGC-1 $\alpha$* )是调控脂肪动员、脂肪酸氧化、细胞脂质摄取及分解和线粒体合成及产能的关键调控基因<sup>[29-31]</sup>, 尤其 *CPT1A* 是长链脂肪酸 $\beta$ 氧化早期步骤的关键调控因子, 参与调节组织中脂肪酸氧化速率<sup>[32-33]</sup>。本试验中, R 组 VAT, 肾周脂 *CPT1A* 有上调趋势, 表明肾周脂中长链脂肪酸氧化速率加快, 这与肾周脂长链脂肪酸含量降低的结果一致, 提示母体可能通过此途径来补偿营养限制造成的机体能量短缺。

*AMPK* 通路能感应机体能量需求状况, 调节机体产能和耗能代谢, 被称为细胞“代谢感受器”和“能量总开关”, 是 GLU 代谢、脂质代谢和脂肪酸组成的中心调控因子<sup>[24]</sup>, 其还能与肝激酶 B1(*LKB1*)互作维持脂质和能量平衡<sup>[34]</sup>。通路中 *AMPK $\alpha$ 2* 和 *AMPK $\beta$ 1* 分别编码 $\alpha$ 2 和 $\beta$ 1 催化亚基。本试验中, R 组 VAT, 肾周脂 *AMPK $\beta$ 1* 基因表达上调, 网膜脂 *AMPK $\alpha$ 2* 基因表达有上调趋势, 表明限饲促进肾周脂和网膜脂能量感知开关基因的表达。解偶联蛋白(*UCP*)家族与机体能量代谢平衡、脂肪沉积、产热等密切相关, 其中解偶联蛋白 1(*UCP1*)主要调控棕色脂肪组织非颤抖性产热; *UCP2* 主要通过上调解偶联作用来调控基础能量代谢, 其还能影响 *FASN* 基因表达来调节脂质合成<sup>[35-36]</sup>。本试验中, R 组 VAT 中, *UCP2* 基因在肾周脂表达下调, 在系膜脂也有下调的趋势, 提示限饲使母体基础能量代谢水平趋于下降, 有利于机体适应限饲引起的能量不足, 这可以理解为母体适应外界不良环境的一种自我保护。De Queiroz 等<sup>[37]</sup>研究表明, *UCP2* 基因表达与脂肪组织脂肪酸含量呈正相关, 脂肪 *FASN* 和 *UCP2* 基因表达变化也有同步性<sup>[35]</sup>。本试验 *UCP2*、*FASN* 基因表达变化及脂肪酸含量变化与上述研究结果一致。综上所述, 限饲上调了母体 VAT 能量感知开关, 并使母体的基础能量代谢水平有降低的趋势。

此外, 本试验发现网膜脂和肾周脂脂肪酸组成受限饲影响程度大于系膜脂; 限饲对肾周脂脂肪代谢基因表达的影响程度明显大于网膜脂和系膜脂。这提示不同 VAT 部位对限饲的响应强度存在差异性, 从强到弱依次为肾周脂、网膜脂和系膜脂, 推测这可能与饥饿-下丘脑-肾上腺轴对营养限制的快速感知和响应路径有关, 具体原因有待深入研究。

#### 4 结 论

限饲导致妊娠中期母羊血液中脂肪代谢调控因子（LEP 和 ADP）含量下降，脂肪代谢产物（FFA）含量上升；引起 VAT 脂肪酸组成改变（PUFA 下降）；并经下调脂肪合成基因（*FASN* 和 *SCD1*）、上调脂肪动员基因（*CPT1A*）及下调基础能量代谢基因（*UCP2*）途径，使母体 VAT 脂肪合成作用减弱、脂质分解和脂肪酸氧化增强来调节机体能量稳态。

参考文献：

- [1] GUZMÁN C,CABRERA R,CÁRDENAS M,et al.Protein restriction during fetal and neonatal development in the rat alters reproductive function and accelerates reproductive ageing in female progeny[J].Journal of Physiology,2006,572(1):97–108.
- [2] ROOS S,LAGERLÖF O,WENNERGREN M,et al.Regulation of amino acid transporters by glucose and growth factors in cultured primary human trophoblast cells is mediated by mTOR signaling[J].American Journal of Physiology Cell Physiology,2009,297(3):C723–C731.
- [3] ROSARIO F J,JANSSON N,KANAI Y,et al.Maternal protein restriction in the rat inhibits placental insulin,mTOR,and STAT3 signaling and down-regulates placental amino acid transporters[J].Endocrinology,2011,152(3):1119–1129.
- [4] BARCROFT J.Researches on pre-natal life[M].Oxford:Blackwell Scientific Publications,1946.
- [5] VIRTUE S,VIDAL-PUIG A.Adipose tissue expandability,lipotoxicity and the metabolic syndrome—an allostatic perspective[J].Genes & Nutrition,2007,2(1):41–45.
- [6] NIELSEN M O,KONGSTED A H,THYGESEN M P,et al.Late gestation undernutrition can predispose for visceral adiposity by altering fat distribution patterns and increasing the preference for a high-fat diet in early postnatal life[J].British Journal of Nutrition,2013,109(11):2098–2110.
- [7] DE BLASIO M J,GATFORD K L,ROBINSON J S,et al.Placental restriction of fetal growth reduces size at birth and alters postnatal growth,feeding activity,and adiposity in the young lamb[J].American Journal of Physiology : Regulatory,Integrative and Comparative Physiology,2007,292(2):R875-R886.
- [8] KHANAL P,HUSTED S V,AXEL A M,et al.Late gestation over-and undernutrition predispose for visceral adiposity in response to a post-natal obesogenic diet,but with differential

impacts on glucose-insulin adaptations during fasting in lambs[J].Acta Physiologica,2013,210(1):110–126.

[9] 张宏福.动物营养参数与饲养标准[M].2版.北京:中国农业出版社,2010.

[10] 张丽英.饲料分析及饲料质量检测技术[M].2版.北京:中国农业大学出版社,2003.

[11] ICHIHARA K,SHIBAHARA A,YAMAMOTO K,et al.An improved method for rapid analysis of the fatty acids of glycerolipids[J].Lipids,1996,31(5):535–539.

[12] WAJCHENBERG B L.Subcutaneous and visceral adipose tissue:their relation to the metabolic syndrome[J].Endocrine Reviews,2000,21(6):697–738.

[13] HABEGGER K M,HEPPNER K M,GEARY N,et al.The metabolic actions of glucagon revisited[J].Nature Reviews Endocrinology,2010,6(12):689–697.

[14] EHRHARDT R A,SLEPETIS R M,BELL A W,et al.Maternal leptin is elevated during pregnancy in sheep[J].Domest Anim Endocrinol,2001,21(2):85–96.

[15] NEDVÍDKOVÁ J,SMITKA K,KOPSKÝ V,et al.Adiponectin,an adipocyte-derived protein[J].Physiological Research,2005,54(2):133–140.

[16] VASSEUR F,LEPRÊTRE F,LACQUEMANT C,et al.The genetics of adiponectin[J].Current Diabetes Reports,2003,3(2):151–158.

[17] DIEZ J J,IGLESIAS P.The role of the novel adipocyte-derived hormone adiponectin in human disease[J].European Journal of Endocrinology,2003,148(3):293–300.

[18] HARRIS R B S,APOLZAN J W.Changes in glucose tolerance and leptin responsiveness of rats offered a choice of lard,sucrose,and chow[J].American Journal of Physiology:Regulatory, Integrative and Comparative Physiology,2012,302(11):R1327–R1339.

[19] HAGHIAC M,BASU S,PRESLEY L,et al.Patterns of adiponectin expression in term pregnancy:impact of obesity[J].The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism,2014,99(9):3427–3434.

[20] 茅慧玲,刘建新.反刍动物肌肉脂肪酸营养调控研究进展[J].饲料工业,2010,31(23):30–34.

[21] BANSKALIEVA V V,SAHLU T,GOETSCH A L.Fatty acid composition of goat muscles



and fat depots:a review[J].Small Ruminant Research,2000,37(3):255–268.

[22] 双金,敖力格日玛,敖长金.苏尼特羊体脂脂肪酸组成的研究[J].畜牧兽医学报,2015,46(8):1363–1374.

[23] DERVISHI E,SERRANO C,JOY M,et al.Effect of the feeding system on the fatty acid composition,expression of the  $\Delta 9$ -desaturase,peroxisome proliferator-activated receptor alpha,gamma,and sterol regulatory element binding protein 1 genes in the semitendinous muscle of light lambs of the *Rasa aragonesa* breed[J].BMC Veterinary Research,2010,6:40.

[24] DERVISHI E,SERRANO C,JOY M,et al.The effect of feeding system in the expression of genes related with fat metabolism in semitendinous muscle in sheep[J].Meat Science,2011,89(1):91–97.

[25] 蒋金航,马云,王新庄.*PPAR*  $\gamma$  基因调控脂肪细胞分化的研究进展[J].中国畜牧杂志,2014,50(9):91–95.

[26] YEON S H,LEE S H,CHOI B H,et al.Genetic variation of *FASN* is associated with fatty acid composition of Hanwoo[J].Meat Science,2013,94(1):133–138.

[27] MENENDEZ J A,LUPU R.Fatty acid synthase-catalyzed *de novo* fatty acid biosynthesis:from anabolic-energy-storage pathway in normal tissues to jack-of-all-trades in cancer cells[J].Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis,2004,52(6):414–426.

[28] PATON C M,NTAMBI J M.Biochemical and physiological function of stearoyl-CoA desaturase[J].American Journal of Physiology Endocrinology and Metabolism,2009,297(1):E28–E37.

[29] HOLM C.Molecular mechanisms regulating hormone-sensitive lipase and lipolysis[J].Biochemical Society Transactions,2003,31(6):1120–1124.

[30] PUIGSERVER P,WU Z D,PARK C W,et al.A cold-inducible coactivator of nuclear receptors linked to adaptive thermogenesis[J].Cell,1998,92(6):829–839.

[31] 孙亮,朱小泉,王沥,等.核辅激活因子 *PGC-1* 表达的分子调控机制[J].中国生物化学与分子生物学报,2005,21(4):431–439.

[32] 张艳芳.*CPT1* 基因对猪脂肪沉积的影响及其调控机制的研究[D].博士学位论文.杭州:浙

江大学,2010.

- [33] BARTELDS B,TAKENS J,SMID G B,et al.Myocardial carnitine palmitoyltransferase I expression and long-chain fatty acid oxidation in fetal and newborn lambs[J].American Journal of Physiology:Heart and Circulatory Physiology,2004,286(6):H2243–H2248.
- [34] MCINNES K J,BROWN K A,HUNGER N I,et al.Regulation of *LKB1* expression by sex hormones in adipocytes[J].International Journal of Obesity,2012,36(7):982–985.
- [35] WU B,DU Y,LIU C,et al.Effect of repeated fasting/refeeding on body weight control and energy balance regulation in rats[J].Journal of Hygiene Research,2010,39(5):601–605.
- [36] MOON J S,LEE S,PARK M A,et al.UCP2-induced fatty acid synthase promotes NLRP3 inflammasome activation during sepsis[J].Journal of Clinical Investigation,2015,125(2):665–680.
- [37] DE QUEIROZ K B,GUIMARÃES J B,COIMBRA C C,et al.Endurance training increases leptin expression in the retroperitoneal adipose tissue of rats fed with a high-sugar diet[J].Lipids,2014,49(1):85–96.

# Effects of Feeding Restriction on Blood Biochemical Indexes and Lipid Metabolism of Visceral Adipose Tissue in Mid-Pregnancy Dams<sup>2</sup>

YANG Hong<sup>1,2</sup> ZHOU Xiaoling<sup>1,2,3</sup> YAN Qiongqian<sup>1,4\*</sup> TAN Zhiliang<sup>1,5</sup>

(1. *Key Laboratory of Agro-Ecological Processes in Subtropical Region, National Engineering Laboratory for Pollution Control and Waste Utilization in Livestock and Poultry Production, Institute of Subtropical Agriculture, Chinese Academy of Sciences, Hunan Provincial Engineering Research Center for Healthy Livestock and Poultry Production, Scientific Observing and Experimental Station of Animal Nutrition and Feed Science in South-Central, Ministry of Agriculture, Changsha 410125, China*; 2. *University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China*; 3. *College of Animal Science, Tarim University, Alaer 843300, China*; 4. *Hunan Co-Innovation Center for Utilization of Botanical Functional Ingredients, Changsha 410128, China*; 5. *Hunan Co-Innovation Center of Animal Production Safety, Changsha 410128, China*)

Abstract: This experiment was conducted to investigate the effects of feeding restriction on blood

\*Corresponding author, assistant professor, E-mail: yanqx14@isa.ac.cn

(责任编辑 王智航)

biochemical indexes, fatty acid composition and gene expressions related to lipid metabolism of visceral adipose tissue (VAT) in mid-pregnancy ewes. Sixteen *Xiangdong* black goats [gestation time of  $(45\pm3)$  d], body weight of  $(29.86\pm3.07)$  kg] were chosen and randomly assigned to control group (C group, 100% of pregnancy nutritional requirements) and restricted group (R group, 40% of pregnancy nutritional requirements), and each group comprised of 8 dams. The experiment period was 45 to 100 d of gestation. At day 101 of gestation, blood biochemical indexes, fatty acid composition and gene expressions related to lipid metabolism and energy sensing in omental, mesenteric and perirenal adipose tissues were detected. The results showed that R group compared with C group: 1) blood contents of glucagon and free fatty acid were significantly increased ( $P<0.05$ ), and blood contents of leptin, adiponectin and high-density lipoprotein cholesterol were significantly decreased ( $P<0.05$ ). 2) The contents of arachidonic acid (C20:4n6), palmitoleic acid (C16:1), linoleic acid (C18:2n6c), epoxyeicosatrienoic acids (C20:3n6) and polyunsaturated fatty acid (PUFA) in omental adipose tissue were significantly decreased ( $P<0.05$ ); the content of myristic acid in mesenteric adipose tissue was significantly decreased ( $P<0.05$ ); the contents of linoleic acid, arachidonic acid, epoxyeicosatrienoic acids and PUFA in perirenal adipose tissue were significantly decreased ( $P<0.05$ ). 3) The expression of adenosine 5'-monophosphate-activated protein kinase  $\alpha$  2 (*AMPK $\alpha$ 2*) gene in omental adipose tissue tended to be increased ( $0.05<P\leq 0.10$ ); the expressions of fatty acid synthetase (*FASN*), stearoyl-CoA desaturase-1 (*SCD1*) and uncoupling protein 2 (*UCP2*) genes in mesenteric adipose tissue tended to be decreased ( $0.05<P\leq 0.10$ ), and the expression of peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  (*PPAR $\gamma$* ) gene tended to be increased ( $0.05<P\leq 0.10$ ); in perirenal adipose tissue, the expressions of *FASN* and *UCP2* genes were significantly decreased ( $P<0.05$ ), while that of adenosine 5'-monophosphate-activated protein kinase  $\beta$  1 (*AMPK $\beta$ 1*) gene was significantly increased ( $P<0.05$ ), and that of carnitine palmitoyltransferase 1A (*CPT1A*) gene tended to be increased ( $0.05<P\leq 0.10$ ). These results indicate that feeding restriction during mid-gestation affects contents of lipid metabolism regulator factors (leptin and adiponectin) and lipid metabolites (free fatty acid), and affects fatty acid composition (PUFA) and gene (*FASN*, *SCD1*,

*CPT1A* and *UCP2*) expressions related to lipid metabolism in VAT of dams, thereby attenuates lipid anabolism and enhances lipid mobilization in VAT to regulate body energy balance.

Key words: feeding restriction; mid-gestation; fatty acids; lipid metabolism; goat